

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH PHÂN TÍCH ĐỒNG THỜI DƯ LƯỢNG SALBUTAMOL, RACTOPAMINE, CLENBUTEROL TRONG THỊT GIA SÚC BẰNG PHƯƠNG PHÁP LC-MS/MS

*Trần Thị Huỳnh, Nguyễn Thị Thu Trâm, Đỗ Châu Minh Vĩnh Thọ**

Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

**Email: dcmvtho@ctump.edu.vn*

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Hiện nay, việc xây dựng phương pháp phân tích để kiểm soát các chất salbutamol, ractopamine, clenbuterol có trong mẫu thịt gia súc với độ chọn lọc, độ nhạy và độ chính xác cao là vấn đề rất cần thiết. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xây dựng, thẩm định quy trình phân tích đồng thời salbutamol, ractopamine, clenbuterol có trong mẫu thịt heo, bò bằng phương pháp LC-MS/MS theo hướng dẫn EC-657/2002, AOAC 2002; ứng dụng quy trình đã thẩm định để phân tích các mẫu thịt. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** chất chuẩn salbutamol, ractopamine, clenbuterol, mẫu thịt heo, bò tại tỉnh Kiên Giang, xây dựng quy trình định lượng salbutamol, ractopamine, clenbuterol bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép hai lần khối phổ. **Kết quả:** các thông số khối phổ thích hợp xác định phân mảnh salbutamol (240,09 → 148,04), ractopamine (302,14 → 164,15), clenbuterol (277,05 → 203,02); thông số sắc ký: cột Agilent Elipse Plus C18 (4,6 x 150 mm; 3,5 μm), chương trình rửa giải gradient, tốc độ dòng 0,8 mL/phút, thể tích tiêm 10 μL, thời gian tiêm mẫu 8 phút. Phương pháp được thẩm định với khoảng tuyến tính 0,5 - 40 ppb với $R^2 > 0,99$, độ thu hồi (87,7 – 104,4 %), độ chính xác liên ngày (RSD < 6,4 %) tốt, giá trị LOD và LOQ lần lượt là 0,0001 - 0,005 ppb và 0,0004 - 0,020 ppb. Kết quả phân tích 10 mẫu thịt bò thị trường, có 04 mẫu tìm thấy dư lượng của salbutamol nhưng dưới 0,5 ppb. **Kết luận:** đã phát triển quy trình phân tích có tính chọn lọc, độ nhạy, chính xác cao để định lượng đồng thời salbutamol, ractopamine, clenbuterol trên nền mẫu thịt gia súc với kết quả phân tích trên 10 mẫu thịt bò thị trường phát hiện có 04 mẫu tìm thấy dư lượng salbutamol.

Từ khóa: Salbutamol, ractopamine, clenbuterol, thịt heo, bò, LC-MS/MS.

ABSTRACT

SIMULTANEOUS DETERMINATION RESIDUE OF SALBUTAMOL, RACTOPAMINE, CLENBUTEROL IN CATTLE MEAT BY LC-MS/MS

*Tran Thi Huynh, Nguyen Thi Thu Tram, Do Chau Minh Vinh Tho**

Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: Currently, it is necessary to develop analytical methods to control salbutamol, ractopamine, and clenbuterol substances in cattle meat samples with high selectivity, sensitivity and accuracy. **Objectives:** To develop, validate a procedure for simultaneous analysis of salbutamol, ractopamine, clenbuterol in pork, beef samples by LC-MS/MS method according to 2002/657/EC, AOAC 2002; application of the validated procedure to the analysis of meat samples. **Materials and methods:** Salbutamol, ractopamine, clenbuterol standards substances and pork, beef samples collected in Kien Giang province, developing a procedure for the quantification of salbutamol, ractopamine, clenbuterol by liquid chromatography tandem mass spectrometry method. **Results:** The suitable mass spectrometric parameters were used to quantify the fragment of salbutamol (240.09 → 148.04), ractopamine (302.14 → 164.15), clenbuterol (277.05 → 203.02); chromatographic parameters: Agilent Elipse Plus C18 column (4.6 x 150 mm; 3.5 μm), gradient elution program, flow rate 0.8 mL/min, sample injection volume 10 μL and sample injection time 8 minutes. The method was validated with a linear range of 0.5 - 40 ppb and high correlation coefficient ($R^2 > 0.99$), very good accuracy (recovery rate 87.7 – 104.4 %) and inter-day precision (RSD < 6.4 %), typical LOD and LOQ values of 0.0001 – 0.005 ppb and 0.0004 – 0.020 ppb.

Analytical result of 10 beef samples on the market, there were 04 samples found residues of salbutamol but below 0.5 ppb. **Conclusion:** Developed a selective, sensitive and highly accurate analytical procedure for the simultaneous quantification of salbutamol, ractopamine, and clenbuterol on the basis of cattle meat samples with analytical results on 10 market beef samples detected with 04 samples found residues of salbutamol.

Keywords: Salbutamol, ractopamine, clenbuterol, pork, beef, LC-MS/MS.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, vì lợi nhuận mà một số người chăn nuôi đã sử dụng các chất tăng trọng nhóm Beta-agonist như salbutamol, ractopamine, clenbuterol... cho vào thức ăn gia súc nhằm giảm lớp mỡ dưới da, tăng tỷ lệ nạc, tăng cân nhanh chóng cho vật nuôi, rút ngắn thời gian chăn nuôi. Tuy nhiên, việc lạm dụng sử dụng chất tăng trọng, thiếu kiểm soát có thể dẫn đến sự tồn lưu dư lượng các chất salbutamol, ractopamine, clenbuterol trong sản phẩm thịt sau khi chế biến và gây hại cho người sử dụng như tăng nhịp tim, huyết áp, lo lắng, run cơ... thậm chí tử vong [5]. Để phân tích dư lượng các Beta-agonist có trong nên mẫu phức tạp như mẫu thịt heo, bò và dư lượng các chất tồn dư rất thấp nên yêu cầu kỹ thuật phân tích có độ chọn lọc, độ nhạy và độ chính xác cao. Theo đó, có nhiều phương pháp xác định các chất nhóm Beta-agonist đã được sử dụng như kỹ thuật miễn dịch chỉ phù hợp sàng lọc do dễ bị phản ứng chéo gây dương tính hoặc âm tính giả [7]; phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ yêu cầu mẫu phân tích phải là những hợp chất bền nhiệt [3]; song song đó phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ ba lần tứ cực đáp ứng được các yêu cầu về độ chọn lọc, độ nhạy và độ chính xác cao để phân tích tồn dư một hay nhiều chất Beta-agonis có trong mẫu phức tạp như thịt gia súc. Từ những lý do trên, việc xây dựng phương pháp phân tích đồng thời dư lượng hormon tăng trọng nhóm Beta-agonist có trong mẫu thịt gia súc bằng phương pháp LC-MS/MS được thực hiện. Với mục tiêu: Xây dựng, thẩm định quy trình phân tích đồng thời salbutamol, ractopamine, clenbuterol có trong mẫu thịt heo, bò bằng phương pháp LC-MS/MS theo hướng dẫn của EC-657/2002 [6], AOAC 2002 [4]; ứng dụng quy trình đã thẩm định để phân tích các mẫu thịt bò trên thị trường.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tiêu chuẩn chọn mẫu: Theo TCVN 4833-1: 2002; QCVN 01-04: 2009/BNNPTNT.

Tiêu chuẩn loại trừ: Những mẫu thịt bị hôi, thối không đạt tiêu chuẩn vi sinh hoặc không đáp ứng theo tiêu chuẩn chọn mẫu.

Đối tượng nghiên cứu: Các chất chuẩn: salbutamol (SALB), ractopamine (RACT), clenbuterol (CLEN); mẫu hỗn hợp chuẩn SALB, RACT, CLEN; mẫu trắng: mẫu thịt heo, thịt bò sạch không có 3 chất SALB, RACT, CLEN được mua tại siêu thị và có giấy chứng nhận chất lượng; mẫu thử giả lập: mẫu hỗn hợp chuẩn SALB, RACT, CLEN được thêm vào mẫu trắng với nồng độ thích hợp để xây dựng và thẩm định phương pháp; mẫu thử: các mẫu thịt heo, bò thu thập tại siêu thị trên địa bàn tỉnh Kiên Giang.

Thiết bị, hóa chất, chất chuẩn: Máy sắc ký lỏng ACQUITY UPLC H-CLASS SYSTEM (Waters) ghép đầu dò khối phổ 3 lần tứ cực Xevo TQD (Waters). Cân phân tích d = 0,1 mg, max 210 g; cột Agilent Elipse Plus C18 (150 mm x 4,6 mm; 3,5 µm); máy ly tâm máy đo pH; máy lắc xoáy; máy xay thịt; tủ lạnh sâu (- 20 °C); máy thổi khí Nitơ. Hóa chất, dung môi, chất chuẩn: Acetonitril (ACN), methanol, acid formic, isopropanol, natri clorua (NaCl), natri sulfat (Na₂SO₄), và magie sulfat khan (MgSO₄), nước cất của hãng J.T

Baker hoặc Merck đạt tiêu chuẩn tinh khiết dùng cho LC-MS; chất đối chiếu salbutamol sulfat, ractopamine hydroclorid, clenbuterol hydroclorid có độ tinh khiết cao (> 98 %) được cung cấp bởi công ty TRC (Canada), Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành Phố Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm.

Cỡ mẫu nghiên cứu: Tổng cộng nghiên cứu được tiến hành trên 192 mẫu.

Chuẩn bị mẫu: Mẫu hỗn hợp dung dịch chuẩn làm việc: Pha chuẩn gốc của SALB, RACT, CLEN trong methanol (200 ppm), từ dung dịch chuẩn gốc thực hiện pha loãng bằng ACN - nước acid formic pH 3,00 (10 : 90) để thu được hỗn hợp dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ 0,1 - 200 ppb để thực hiện các yêu cầu phát triển, thẩm định và ứng dụng phương pháp. Mẫu trắng: mẫu thịt heo, thịt bò sạch không có 3 chất SALB, RACT, CLEN được mua tại siêu thị và có giấy chứng nhận chất lượng. Mẫu thịt được xay nhuyễn bằng máy xay thịt, bảo quản trong tủ đông ở nhiệt độ âm 20 °C. Mẫu thử giả lập: mẫu hỗn hợp chuẩn SALB, RACT, CLEN được thêm vào mẫu trắng với nồng độ thích hợp để xây dựng và thẩm định phương pháp. Mẫu thử: Mẫu thịt thu thập được xay nhuyễn, bảo quản trong tủ đông ở nhiệt độ âm 20 °C, khi thực hiện phân tích phải đưa mẫu về nhiệt độ phòng.

Nội dung nghiên cứu

Tìm điều kiện khối phổ: Pha hỗn hợp dung dịch chuẩn SALB, RACT, CLEN 200 ppb trong methanol và bơm trực tiếp vào hệ thống khối phổ Xevo TQD, sử dụng chế độ Auto tune trong phần mềm Masslynx 4.1 nhằm tối ưu hóa điều kiện khối phổ để thu được ion mẹ và các phân mảnh con ở chế độ giám sát đa phản ứng MRM (multi-reaction monitoring) có cường độ tín hiệu tối ưu của các chất tăng trọng cần phân tích với các thông số khối phổ cần khảo sát: kiểu ion hóa (ES^+ hay ES^-), thế mao quản, thế cone, tốc độ dòng khí phun, nhiệt độ buồng ion hóa, nhiệt độ khí hóa hơi, tốc độ dòng khí hóa hơi, năng lượng va đập.

Tìm điều kiện sắc ký: Dựa vào cấu trúc hóa học các tăng trọng trong nghiên cứu, kỹ thuật sắc ký pha đảo được áp dụng với hệ dung môi phân cực bao gồm acetonitril, methanol, nước có thêm hoặc không thêm chất điều chỉnh pH như acid formic, để khảo sát điều kiện sắc ký thích hợp tách đồng thời 3 chất tăng trọng trên hỗn hợp dung dịch chuẩn SALB, RACT, CLEN 25 ppb trong acetonitril 10 % trong nước acid formic pH 3,00 và mẫu thử giả lập.

Khảo sát quy trình chiết thích hợp và thẩm định phương pháp phân tích: Được thực hiện sau khi tìm được điều kiện khối phổ tối ưu, điều kiện sắc ký thích hợp, dựa theo hướng dẫn của EC-657/2002 [6], AOAC 2002 [4] bao gồm khảo sát tính tương thích của hệ thống, tính đặc hiệu, khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ), độ thu hồi, độ chính xác. Quy trình thẩm định sẽ được áp dụng xác định dư lượng 3 chất tăng trọng trên có trong 10 mẫu thịt bò thu thập tại siêu thị trên địa bàn tỉnh Kiên Giang.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Điều kiện khối phổ thích hợp: Chế độ MRM xác định hai ion sản phẩm ứng với mỗi chất. Ion có tín hiệu cao và ổn định hơn được chọn làm ion định lượng (đl), ion còn lại được dùng để định tính (đt). Các thông số khối phổ tối ưu được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát điều kiện khối phổ tối ưu các chất phân tích

Chất phân tích	Kiểu ion hóa ESI	m/z ion mẹ	m/z ion con	Nhiệt độ khí hóa hơi (°C)	Tốc độ dòng khí hóa hơi (l/h)	Thế cone (V)	Thế mao quản (kV)	Năng lượng va đập (V)	Ghi chú
SALB	ES ⁺	240,09	148,04	500	1000	25	4,0	20	đl
			166,05			25	4,0	15	đt
302,14		164,15	25			4,0	16	đl	
		121,05	25			4,0	25	đt	
277,05		203,02	24			4,0	16	đl	
		131,91	24			4,0	25	đt	

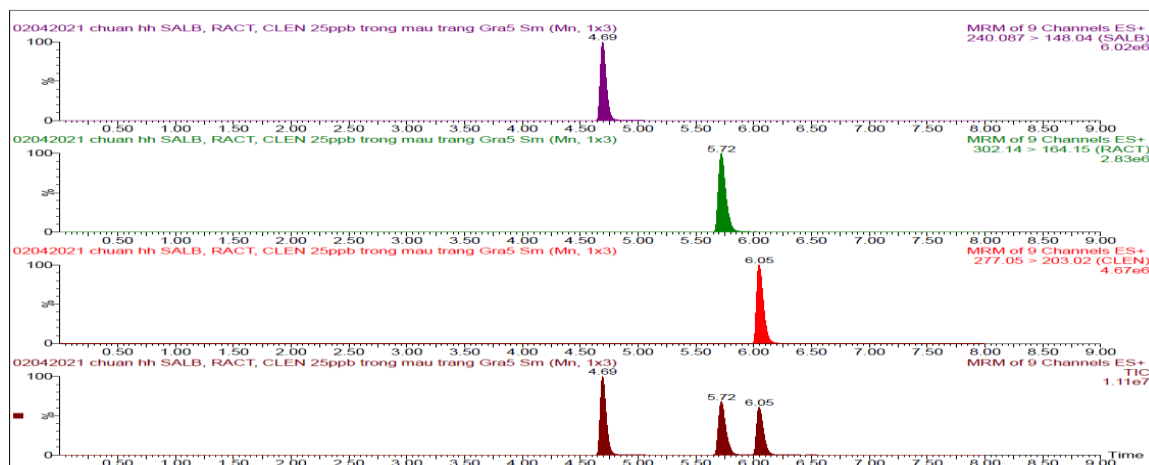
Nhận xét: Với điều kiện khối phổ thích hợp: ESI⁺, thế mao quản 4 kV, nhiệt độ khí hóa hơi 500 °C, tốc độ dòng khí hóa hơi 1000 L/Hr, thế cone 24V-25V, năng lượng va đập 15 V – 25 V, mỗi chất phân tích đều xác định được một ion mẹ và hai ion sản phẩm sử dụng cho mục đích định lượng và định tính đáp ứng yêu cầu của EC-657/2002.

Điều kiện sắc ký thích hợp

Pha tĩnh: Cột Agilent Eclipse Plus C18 (150 mm x 4,6 mm; 3,5 μm). Pha động ACN – nước acid formic pH 3,00 theo chương trình gradient được trình bày trong Bảng 2. Thể tích tiêm mẫu: 10 μL; tốc độ dòng: 0,8 mL/phút.

Bảng 2. Điều kiện sắc ký thích hợp phân tích đồng thời SALB, RACT, CLEN

Thời gian (phút)	Tốc độ dòng (mL/phút)	ACN	Nước acid formic pH 3,00
0	0,8	5,0	95,0
1,5	0,8	5,0	95,0
1,6	0,8	10,0	90,0
6,5	0,8	60,0	40,0
6,6	0,8	5,0	95,0
8,0	0,8	5,0	95,0

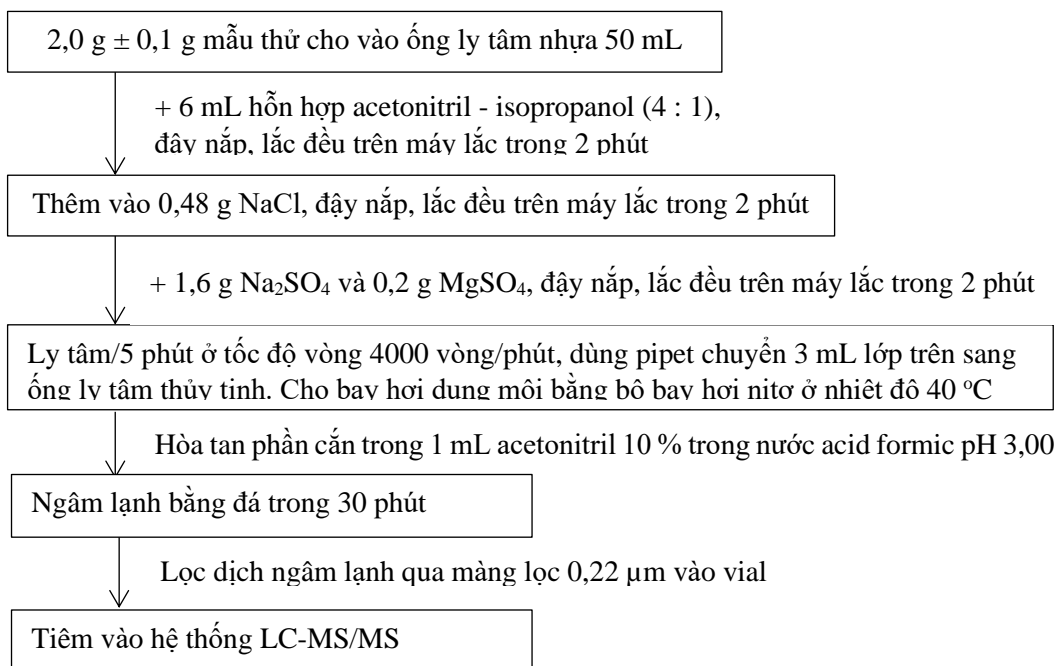


Hình 1: Sắc ký đồ của hỗn hợp chuẩn SALB, RACT, CLEN ở điều kiện sắc ký thích hợp

Nhận xét: Chương trình rửa giải gradient được trình bày ở Bảng 2 và sắc ký đồ ở điều kiện sắc ký thích hợp thể hiện ở Hình 1, cho kết quả thu được các pic nhọn, cân đối, cường độ tín hiệu cao và ổn định, thời gian phân tích ngắn, các chất phân tích tách ra hoàn toàn.

Quy trình xử lý mẫu thích hợp

Có các phương pháp chiết chất phân tích ra khỏi nền mẫu phân tích được nghiên cứu bởi nhiều tác giả [1][2][3] như: phương pháp kết tủa protein, phương pháp SPE, phương pháp QuEChERS. Với nghiên cứu này nhóm nghiên cứu sử dụng phương pháp kết tủa protein kết hợp với phương pháp QuEChERS để chiết dư lượng SALB, RACT, CLEN trong mẫu thử. Kết quả cho thấy quy trình chiết cho hiệu suất thu hồi của SALB, RACT, CLEN đạt yêu cầu quy định, cường độ tín hiệu các chất cao, ổn định, hình dạng pic cân đối, các bước xử lý mẫu đơn giản. Quy trình này được sử dụng để thẩm định và tiến hành áp dụng trên mẫu thực. Quy trình xử lý mẫu thích hợp được trình bày ở sơ đồ Hình 2.



Hình 2: Quy trình xử lý mẫu thích hợp

Thẩm định quy trình phân tích

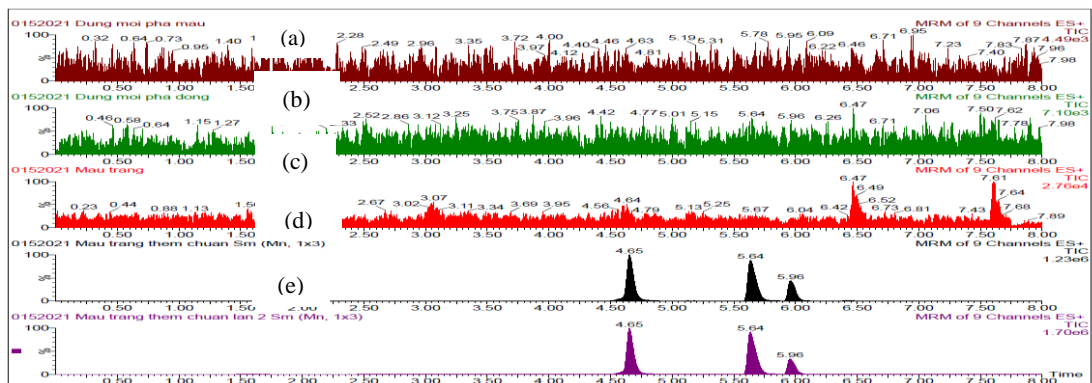
Tính tương thích hệ thống: Kết quả được trình bày trong Bảng 3

Bảng 3. Kết quả tính tương thích hệ thống

Chất phân tích		t_R (phút)	S_{pic}
SALB	TB	4,63	52943,82
	RSD%	0,1	1,7
RACT	TB	5,58	59481,14
	RSD%	0,1	1,4
CLEN	TB	5,90	43878,88
	RSD%	0,1	1,1

Nhận xét: RSD của các thông số khảo sát đều nằm trong giới hạn cho phép (RSD % thời gian lưu và diện tích pic ≤ 15 %), do đó thiết bị có độ ổn định và độ chính xác cao, đáp ứng yêu cầu để phân tích.

Tính đặc hiệu: Kết quả tính đặc hiệu của quy trình phân tích được trình bày ở Hình 3.



Hình 3: Sắc ký đồ dung môi pha mẫu (a), dung môi pha động (b), mẫu trắng (c), mẫu trắng thêm chuẩn (d), mẫu trắng thêm chuẩn lần 2 (e) của SALB, RACT, CLEN

Nhận xét: Mẫu trắng không cho tín hiệu chất phân tích, trong khi mẫu thử giả lập cho tín hiệu chất phân tích tại thời gian lưu trùng với thời gian lưu trên mẫu chuẩn. Khi thêm chuẩn vào mẫu thử giả lập, tín hiệu và diện tích pic tại thời gian lưu của các chất đều tăng lên rõ rệt.

Khoảng tuyến tính - đường chuẩn và giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ), độ đúng, độ chính xác

Các đường chuẩn được xây dựng trên mẫu trắng và được thiết lập dựa trên phần mềm của thiết bị (Masslynx 4.1). Kết quả tính tuyến tính, LOD, LOQ, độ thu hồi, độ chính xác của SALB, RACT, CLEN được trình bày trong Bảng 4, Bảng 5, Hình 4 và Hình 5.

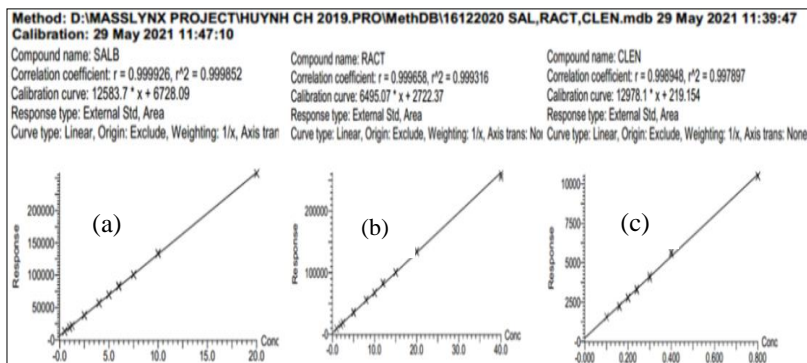
Bảng 4. Khoảng tuyến tính, phương trình hồi quy, LOD, LOQ của các chất phân tích

Chất phân tích	Khoảng tuyến tính (ppb)	Phương trình hồi quy	Hệ số tương quan (r ²)	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
SALB	0,5 - 20	y = 12583,7 x + 6728,09	0,9999	0,0003	0,0009
RACT	1,0 - 40	y = 6495,07 x + 2722,37	0,9993	0,0001	0,0004
CLEN	0,1 - 0,8	y = 12978,1 x + 219,154	0,9979	0,005	0,020

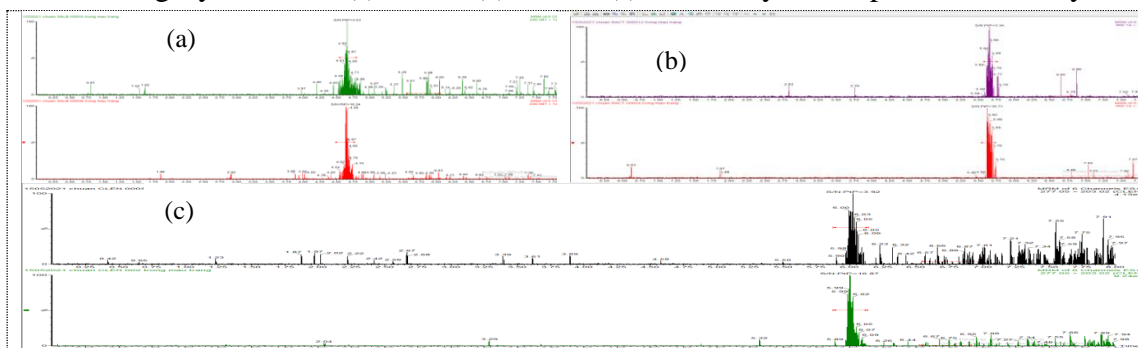
Bảng 5. Độ thu hồi, độ chính xác của SALB, RACT, CLEN

Chất phân tích	Ngày	0,5 MRL		1,0 MRL		1,5 MRL	
		R %	RSD %	R %	RSD %	R %	RSD %
SALB	1	102,8	1,5	88,4	1,6	87,7	1,9
	2	89,6	1,3	91,5	1,2	91,2	1,3
	3	92,0	1,4	93,9	1,7	91,2	1,9
RACT	1	99,2	3,2	103,9	1,6	101,6	2,9
	2	104,4	1,1	98,4	1,7	103,6	1,3
	3	100,1	1,8	101,0	2,3	100,8	2,3
CLEN	1	94,1	5,4	96,8	3,0	89,6	1,9
	2	101,0	2,5	101,7	2,9	90,0	1,4
	3	89,6	1,6	101,1	3,9	89,7	1,8

(Với MRL của SALB, RACT, CLEN lần lượt là 5 ppb, 10 ppb, 0,2 ppb)



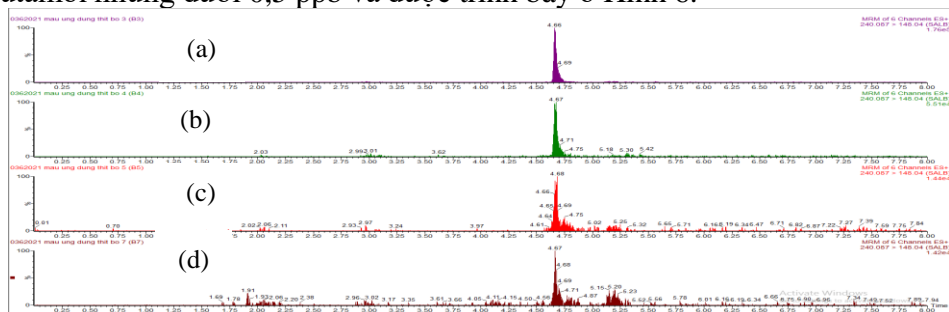
Hình 4: Đường tuyến tính của (a) SALB, (b) RACT, (c) CLEN truy xuất từ phần mềm Masslynx 4.1



Hình 5: (a) LOD, LOQ của SALB tại 0,0003 ppb (S/N = 3,53), 0,0009 ppb (S/N = 10,24); (b) LOD của RACT tại 0,0001 ppb (S/N = 3,34), 0,0004 ppb (S/N = 10,71); (c) LOD của CLEN tại 0,005 ppb (S/N = 3,92), 0,020 ppb (S/N = 10,87)

Nhận xét: Trong khoảng nồng độ khảo sát của các chất tăng trọng đều đạt tính tuyến tính với giá trị $R^2 > 0,99$ với khoảng tuyến tính rộng (SALB: 0,5 ppb - 20 ppb; RACT: 1,0 ppb - 40 ppb; CLEN: 0,1 ppb - 0,8 ppb), giá trị LOD (0,0001 ppb - 0,005 ppb) và LOQ (0,0004 ppb - 0,020 ppb) đặc trưng cho phân tích khối phổ, nên đáp ứng được yêu cầu ứng dụng cho mẫu thực tế để xác định dư lượng các chất này. Các giá trị độ thu hồi trung bình của cả 03 chất SALB, RACT, CLEN đều nằm trong khoảng 50 -120 % và giá trị RSD < 23 % đáp ứng yêu cầu của EC-657/2002. Do đó phương pháp đạt độ thu hồi, độ chính xác cao. Vì vậy, có thể áp dụng quy trình này để xác định dư lượng của 03 chất tăng trọng SALB, RACT, CLEN có trong các mẫu thịt trên thị trường.

Ứng dụng quy trình đã thẩm định để phân tích các mẫu thịt: Sau khi quy trình được thẩm định đạt yêu cầu, ứng dụng quy trình này để phân tích 10 mẫu thịt bò được thu thập tại siêu thị trên địa bàn tỉnh Kiên Giang. Kết quả phân tích có 04 mẫu tìm thấy dư lượng của salbutamol nhưng dưới 0,5 ppb và được trình bày ở Hình 6.



Hình 6: Sắc ký đồ mẫu thịt bò B3 (a), B4 (b), B5 (c), B7 (d) có salbutamol

IV. BÀN LUẬN

Điều kiện khối phổ: Nghiên cứu này đã sử dụng chế độ Auto tune trong phần mềm Masslynx 4.1 trong hệ thống khối phổ nhằm tối ưu hóa điều kiện khối phổ kết quả mỗi chất phân tích thu được một ion mẹ và hai ion sản phẩm đáp ứng yêu cầu của EC-657/2002.

Điều kiện sắc ký: Kỹ thuật sắc ký pha đảo, chương trình rửa giải gradient với hệ dung môi phân cực gồm acetonitril, nước acid formic pH 3,00, acid formic với vai trò chất điều chỉnh pH giúp chất phân tích tồn tại ở một dạng nhất định và hình dạng pic gọn đẹp.

Quy trình xử lý mẫu: Với nghiên cứu này nhóm nghiên cứu sử dụng phương pháp kết tủa protein kết hợp với phương pháp QuEChERS dùng hỗn hợp acetonitril– isopropanol để chiết dư lượng salbutamol, ractopamine, clenbuterol trong mẫu thử, các muối NaCl, Na₂SO₄, MgSO₄ để tủa protein và loại nước trong dịch chiết. Sử dụng phương pháp ngâm lạnh để loại chất béo có trong nền mẫu thay cho phương pháp sử dụng n - hexan [1] [2]. Phương pháp ngâm lạnh giúp hạ thấp nhiệt độ dịch chiết làm cho các tạp kém phân cực đặc biệt là chất béo đông đặc lại và chúng được loại bỏ khỏi dịch chiết qua việc lọc qua màng lọc 0,22 µm. Ngoài ra phương pháp ngâm lạnh là phương pháp đơn giản, tiết kiệm hóa chất, không ảnh hưởng đến sức khỏe con người, thân thiện với môi trường. Kết quả cho thấy quy trình đạt độ thu hồi cao.

Thẩm định quy trình phân tích: Tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ lặp lại, độ tái lập, độ thu hồi đều đạt yêu cầu theo quy định của EC-657/2002 [6], AOAC 2002 [4]. Phương pháp cho kết quả độ thu hồi (SALB từ 87,7%-102,8%; RACT từ 98,4%-104,4%; CLEN từ 89,6%-101,7%) cao hơn các nghiên cứu [2], [3].

Ứng dụng quy trình đã thẩm định để phân tích các mẫu thịt: Phân tích 10 mẫu thịt bò được thu thập tại siêu thị trên địa bàn tỉnh Kiên Giang. Kết quả phân tích có 04 mẫu tìm thấy dư lượng của salbutamol nhưng dưới 0,5 ppb. Tuy nhiên để đánh giá tình hình sử dụng chất tăng trọng nhóm Beta-agonist trong thịt gia súc trên địa bàn tỉnh Kiên Giang mang tính khách quan cần thu thập thêm mẫu tại các chợ, lò giết mổ trên địa bàn tỉnh này.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng thành công quy trình phân tích đồng thời dư lượng 3 chất tăng trọng salbutamol, ractopamine, clenbuterol có trong thịt gia súc bằng phương pháp LC-MS/MS. Các chỉ tiêu thẩm định của quy trình: tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, LOD, LOQ, độ chính xác, độ thu hồi đã được thẩm định đạt theo hướng dẫn của EC-657/2002, AOAC 2002. Quy trình phân tích có tính chọn lọc, chính xác, tin cậy cao và được ứng dụng vào thực tế để kiểm tra 10 mẫu thịt bò được thu thập tại siêu thị của tỉnh Kiên Giang. Kết quả phát hiện 04 mẫu có dư lượng salbutamol nhưng dưới 0,5 ppb.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Khoa học và Công nghệ (2016), TCVN 11294:2016 về Thịt và sản phẩm thịt - Xác định dư lượng β -agonist trong thịt gia súc bằng phương pháp sắc ký lỏng phổ khối lượng hai lần, Hà Nội.
2. Nguyễn Hương Giang (2017), “Xây dựng quy trình xác định β 2-agonist trong thịt, gan, thận heo bằng phương pháp quechers kết hợp với UPLC-MS/MS”, Tạp chí Khoa học và Công nghệ, 55 (5A), 202-210.
3. Trần Nguyễn An Sa, Nguyễn Trang Vi Hậu (2017), “Xác định salbutamol trong mẫu thịt bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS)”, Tạp chí Khoa học công nghệ và Thực phẩm, 12 (1), 73-80.
4. AOAC Guidelines (2002), Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical

- Methods for Dietary Supplements and Botanicals, 2002.
5. Bush, A., & Frey, U. (2016), Safety of long-acting beta-agonists in children with asthma.
 6. European Union (2002),2002/657/EC-Commission decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results.
 7. Li, C., Li, J., Jiang, W., Zhang, S., Shen, J., Wen, K., & Wang, Z. (2015). Development and application of a gel-based immunoassay for the rapid screening of salbutamol and ractopamine residues in pork. Journal of agricultural and food chemistry, 63(48), 10556-10561
- (Ngày nhận bài: 21/8/2021 - Ngày duyệt đăng: 10/10/2021)*
-